

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑨細菌(TA100 株及び TA1535 株)を用いた復帰突然変異試験
(ラット肝マイクロソームの存在下及び非存在)

(資料 No.C-43)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

検体純度:

方 法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100 株及び TA1535 株)を用い、市販のラット肝マイクロソーム精製品から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法により、プレインキュベーション法で変異原性を検索した。溶媒にはジメトキシスルホキシド(DMSO)を用い、同試験機関により既に報告された試験の結果に基づいて 10.0~2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲の各 8 濃度で実施した。試験は 3 連制とした。

S-9 mix は、Aroclor 1254 を 500 mg/kg の用量で静脈内に注射した Sprague-Dawley 系雄ラットから調製した肝臓マイクロソーム精製品 12 mL を、0.33 M Glucose-6-phosphate 10 mL、0.031M NADP 10mL、0.52M MgCl_2 2 mL 及び Potassium phosphate (pH 7.4) 2.5 mL 混合物に加えて作製した。

用量設定根拠; 先に実施した TA1535 菌株を用いた Covance での試験(資料 No. C-42)は、検体濃度 10.0~2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で実施され、復帰変異コロニー数を溶媒対照(エタノール)と比較した結果、ラットの肝マイクロソームを含む S-9 mix の存在下で最大 6.3 倍、非存在下では最大 7.3 倍に増加させた。本試験では DMSO を溶媒に採用し、試験菌株に TA100 を加え、同じ濃度範囲で試験した。

判定基準; 試験菌株 TA100 においては、3 プレートの復帰変異コロニー数平均が溶媒対照に対して少なくとも 2 倍の増加を示し、且つ、検体濃度の上昇に伴う復帰変異コロニー数の増加が認められる場合、復帰突然変異原性は陽性と判定する。

試験菌株 TA1535 については、変異コロニー数が溶媒対照の少なくとも 3 倍に増加し、用量相関性が見られる場合、陽性と判定する。

試験結果: 表 1 に結果を示す。試験菌株 TA100 及び TA1535 における復帰変異コロニー数は、代謝活性化の非存在下で、溶媒対照と比較してそれぞれ 3.5 倍及び 6.0 倍、存在下ではそれぞれ 2.5 倍及び 4.6 倍増加した。また、陽性対照として用いた sodium azide 及び 2-aminoanthracene も、これらの試験菌株において明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化の非存在下及び存在下の両方の条件下で、復帰変異誘発性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 1. 復帰変異原性試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				背景 細菌 叢
			TA100		TA1535		
			プレート別	平均 \pm sd	プレート別	平均 \pm sd	
対照 (DMSO)	—	—	93, 95, 103	97 \pm 5	11, 11, 19	14 \pm 5	正常
検体	10.0	—	100, 91, 84	92 \pm 8	15, 9, 13	12 \pm 3	正常
	33.3	—	118, 102, 91	104 \pm 14	12, 19, 18	16 \pm 4	正常
	66.7	—	91, 104, 110	102 \pm 10	17, 14, 14	15 \pm 2	正常
	100	—	98, 103, 117	106 \pm 10	15, 13, 12	13 \pm 2	正常
	333	—	176, 154, 149	160 \pm 14	43, 30, 43	39 \pm 8	正常
	667	—	345, 303, 292	313 \pm 28	79, 79, 80	79 \pm 1	正常
	1000	—	252, 349, 421	341 \pm 85	100, 86, 66	84 \pm 17	(a)
	2000	—	71, 81, 66	73 \pm 8	12, 20, 8	13 \pm 6	(b)
対照 (DMSO)	—	+	108, 99, 105	104 \pm 5	16, 15, 16	16 \pm 1	正常
検体	10.0	+	95, 92, 88	92 \pm 4	10, 16, 12	13 \pm 3	正常
	33.3	+	102, 117, 103	107 \pm 8	19, 6, 7	11 \pm 7	正常
	66.7	+	132, 118, 107	119 \pm 13	28, 13, 15	19 \pm 8	正常
	100	+	138, 128, 145	137 \pm 9	17, 26, 21	21 \pm 5	正常
	333	+	178, 151, 187	172 \pm 19	40, 33, 43	39 \pm 5	正常
	667	+	234, 266, 280	260 \pm 24	73, 61, 73	69 \pm 7	正常
	1000	+	238, 261, 244	248 \pm 12	81, 76, 63	73 \pm 9	(c)
	2000	+	117, 108, 103	109 \pm 7	35, 25, 28	29 \pm 5	(b)
陽性 対照	Sodium azide 2.0	—	962, 934, 921	939 \pm 21	747, 748, 730	742 \pm 10	正常
	2-aminoanthracene 3.3	+	1212, 1186, 1119	1172 \pm 48	201, 190, 169	187 \pm 16	正常

sd : 標準偏差

正常 : TA100 及び TA1535 いずれも正常

(a) : TA100 及び TA1535 いずれも軽度の減少

(b) : TA100 及び TA1535 いずれも中程度の減少

(c) : TA100 は正常、TA1535 は軽度の減少

⑩細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料No. B-28)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1990年

検体の純度:

方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び TA1538) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* pKM101) を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9) の存在下及び非存在下、プレインキュベーション法で確認試験も含めて変異原性を検索した。検体を溶解させるため、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

検体の濃度は、予備試験に基づいて決定し、1回目試験では 10000 $\mu\text{g/mL}$ までの 8 用量を、2回目試験では 2500 $\mu\text{g/mL}$ までの 6 用量を用いた。

陽性対照として代謝活性化系非存在下でアジ化ナトリウム (NaN_3)、9-アミノアクリジン (9AAC)、重クロム酸カリウム (PD) または 2-ニトロフルオレン (NF) を用い、代謝活性化系存在下でベンゾ (a) ピレン (BP)、2-アミノアントラセン (2AAN) またはニュートラルレッド (NR) を用いた。

また、変異原性試験で最も感受性の高かった菌株を用い、グルタチオンが本検体の変異原性に及ぼす影響を調べる試験についても実施した。

結果: 結果を次項以降の表に示した。

検体処理により、S9 mix の有無に関わらず、WP2 *uvrA*、TA1535 及び TA100 において復帰変異コロニーの再現性かつ用量相関性のある増加が認められた。また、TA98 においても S9 mix の有無に関わらず、わずかに用量相関性のある増加がみられた。TA1537 及び TA1538 では、増加は認められなかった。細胞毒性は全菌株において 2500 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量で、さらに TA1538 では S9 mix 存在下の 1250 $\mu\text{g/mL}$ でも認められた。検体の析出は認められなかった (表 1 及び 2)。陽性対照は妥当な反応を示した。

また、TA1535 に溶媒対照または検体 1250 $\mu\text{g/mL}$ を処理し、グルタチオンを 0.3125-20 mM の濃度で加えて同様に試験した結果、グルタチオン添加により検体処理群の復帰変異コロニー数は減少した (表 3)。

以上の結果から、本試験条件下においてシス-1, 3-ジクロロプロペンの復帰変異誘発性は陽性と判断された。またグルタチオン添加により、本検体の復帰変異誘発性は軽減されると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 1 復帰突然変異試験 1 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー率 ¹⁾						
			TA98	TA100	TA1538	TA1537	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	
検体	78.1	-	1.0	1.3	1.0	1.1	1.4	1.0	
	156.3	-	1.4	1.4	0.9	1.2	1.5	1.2	
	312.5	-	1.2	1.6	1.0	0.9	1.6	1.4	
	625	-	1.3	2.6*	0.8	0.5	3.3*	1.3	
	1250	-	1.8	2.8*	0.6	0.5	10.3*	2.8*	
	2500	-	0.1+	0.2*	0+	0.5+	1.9+	0.1+	
	5000	-	0+	NT	0+	0+	1.3+	0+	
	10000	-	0+	NT	0+	0+	0+	0+	
陽性 対照	NaN ₃	1	-	NT	NT	NT	NT	22.2*	NT
		2	-	NT	3.7*	NT	NT	NT	NT
	9AAC	12.5	-	NT	NT	NT	28.8*	NT	NT
	PD	10	-	NT	NT	NT	NT	NT	3.3*
	NF	2.5	-	14.9*	NT	22.3*	NT	NT	NT
検体	78.1	+	1.1	1.3	0.9	0.7	2.1	0.9	
	156.3	+	1.2	1.4	0.9	1.0	4.3*	1.3	
	312.5	+	1.4	1.9	0.7	1.4	5.5*	1.6	
	625	+	1.8	2.6*	0.8	0.9	5.9*	1.6	
	1250	+	2.2	2.3	0.2+	0.8	5.9*	1.9	
	2500	+	0.3+	0.1+	0.2+	0.4+	1.7+	0.1+	
	5000	+	0+	NT	0+	0+	1.5+	0+	
	10000	+	0+	NT	0+	0+	1.0+	0+	
陽性 対照	BP	5	+	8.3*	NT	7.2*	NT	NT	4.1*
		10	+	NT	4.5*	NT	NT	NT	NT
	2AAN	2.5	+	NT	NT	NT	NT	10.9*	NT
	NR	10	+	NT	NT	NT	10.5*	NT	NT

1) 検体処理プレートにおける平均復帰変異コロニー数/溶媒対照プレートにおける平均復帰変異コロニー数

注) 用量相関性及び再現性のある増加、または溶媒対照の 2.5 倍以上の増加が見られた場合に
変異原性を示唆するものとし、*を付した。

NT: 試験せず +: 細胞毒性

NaN₃: アジ化ナトリウム、9AAC: 9-アミノアクリジン、PD: 重クロム酸カリウム、

NF: 2-ニトロフルオレン、

BP: ベンゾ(a)ピレン、2AAN: 2-アミノアントラセン、NR: ニュートラルレッド

表 2 復帰突然変異試験 2 回目

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー率 ¹⁾						
			TA98	TA100	TA1538	TA1537	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	
検体	78.1	-	1.1	1.2	1.2	1.0	1.0	1.1	
	156.3	-	0.7	1.4	1.6	1.1	1.8	1.3	
	312.5	-	1.1	1.9	1.3	1.3	2.2	1.5	
	625	-	0.9	2.9*	1.3	1.0	4.6*	2.0	
	1250	-	1.7	3.9*	1.3	0.8	15.3*	3.4*	
	2500	-	0.1+	0.2+	0.4+	0.2+	25.3*	0.2+	
陽性 対照	NaN ₃	1	-	NT	NT	NT	NT	16.7*	NT
		2	-	NT	3.8*	NT	NT	NT	NT
	9AAC	12.5	-	NT	NT	NT	23.4*	NT	NT
	PD	10	-	NT	NT	NT	NT	NT	4.2*
	NF	2.5	-	15.4*	NT	18.7*	NT	NT	NT
検体	78.1	+	0.8	1.4	1.1	1.0	1.0	1.7	
	156.3	+	0.9	2.0	1.1	0.9	1.7	2.1	
	312.5	+	1.1	2.3	0.9	0.9	3.6*	2.0	
	625	+	1.3	2.8*	1.1	1.0	3.6*	3.0*	
	1250	+	2.0	3.1*	0.9	0.7	4.5*	2.8*	
	2500	+	0.4+	0.3+	0.4+	0.2+	5.6*	0.2+	
陽性 対照	BP	5	+	8.7*	NT	4.7*	NT	NT	4.9*
		10	+	NT	8.3*	NT	NT	NT	NT
	2AAN	2.5	+	NT	NT	NT	NT	6.5*	NT
	NR	10	+	NT	NT	NT	9.5*	NT	NT

1) 検体処理プレートにおける平均復帰変異コロニー数/溶媒対照プレートにおける平均復帰変異コロニー数

注) 用量相関性及び再現性のある増加、または溶媒対照の 2.5 倍以上の増加が見られた場合に
変異原性を示唆するものとし、*を付した。

NT: 試験せず +: 細胞毒性

NaN₃: アジ化ナトリウム、9AAC: 9-アミノアクリジン、PD: 重クロム酸カリウム、

NF: 2-ニトロフルオレン、

BP: ベンゾ(a)ピレン、2AAN: 2-アミノアントラセン、NR: ニュートラルレッド

表 3 TA1535 を用いたグルタチオン添加による復帰変異コロニー数への影響試験

グルタチオン (mM)	復帰変異コロニー数/plate							
	試験 I				試験 II			
	-S9		+S9		-S9		+S9	
溶媒対照 (DMSO)	検体 ¹⁾	溶媒対照 (DMSO)	検体 ¹⁾	溶媒対照 (DMSO)	検体 ¹⁾	溶媒対照 (DMSO)	検体 ¹⁾	
0	15.0	170.0	15.3	51.3	23.0	200.7	11.3	59.3
0.3125	13.7	76.7	13.3	55.7	14.0	28.3	12.3	45.3
0.625	14.0	83.0	17.7	51.0	18.0	30.0	11.0	44.3
1.25	15.0	73.7	13.7	41.7	12.7	27.7	10.3	38.0
2.5	14.3	64.0	13.3	32.3	10.7	21.0	9.7	23.0
5	12.7	68.7	14.7	26.7	9.0	24.3	13.0	21.3
10	12.0	58.3	11.7	19.3	10.7	25.0	7.3	15.0
20	12.0	44.0	14.0	15.3	11.3	9.3	8.7	12.3

1) 1250 $\mu\text{g/mL}$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑪チャイニーズハムスターの肺細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験

(資料No. B-22, C-26)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

検体の純度:

方法: チャイニーズハムスターの肺由来の歴代培養した細胞株 CHL を用いた。試験前に濃度設定の為に増殖抑制試験を実施した。この結果から本試験の濃度は溶媒対照に対して約50%以上抑制される濃度を最高濃度とし、非活性化法で、277.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、活性化法でも 277.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。陽性対照はマイトマイシンC (MMC) とした。各濃度で 200個 (陽性対照は 100個) の分裂中期像を観察した。染色体異常を染色分体型でギャップ, 切断, 交換, 環状染色体, 染色体型でギャップ, 切断, 多動原体染色体, 環状染色体, その他に、断片, 細粉化, その他に分類し計測した。なお、ギャップは染色分体型と染色体型の数の合計とした。異常を有する細胞の出現頻度は5%未満を陰性(-), 5%以上10%未満を疑陽性(\pm) 10%以上で濃度依存性が認められた場合を陽性(+)とした。

結果: 結果を次頁以降の表に示した。

検体投与群は50%以上の細胞増殖抑制を示したレベルの濃度を含め、染色体異常の発現頻度において薬物代謝系の存在の有無にかかわらず、濃度と相関した染色体異常発現性を有すると考えられる。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC (MMC) は顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、本検体におけるチャイニーズハムスター肺細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験での変異原性は陽性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I, 3-D 技術協議会にある。

代謝 活性化 の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間	異常を有する細胞数/200 (陽性対照/100)										総異常出現細胞数	出現頻度 (%)	評 価		
				ギャップ	染色分体型			染色体型			断片	細粉化	その他					
					切断	交換	環	切断	多動原体	環								
非活性化	溶媒 (DMSO)	0.5%	24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1.0	—	
		69.36		1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1.0	—		
		138.7		3	3	5	1	0	0	0	3	1	0	13	6.5	±		
		194.2		1	10	26	5	0	0	0	5	0	0	32	16.0	+		
	277.5	5	31	39	8	0	1	0	9	0	0	58	29.0	+				
	陽性対照 (MMC)	0.4	8	50	38	10	0	0	2	16	0	0	68	34.0	+			
	溶媒 (DMSO)	0.5%	48	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	—		
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	7	3.5	—		
		69.36		1	6	4	1	0	0	0	1	1	0	12	6.0	±		
138.7		1		12	5	0	1	0	0	1	1	0	18	9.0	±			
194.2		1		7	18	1	0	1	4	0	2	0	28	14.0	+			
277.5	5	11	18	1	0	1	1	1	1	1	32	16.0	+					
陽性対照 (MMC)	0.4	4	72	80	4	0	0	4	24	42	0	170	85.0	+				

代謝 活性化 の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処理 時間	異常を有する細胞数/200 (陽性対照/100)										総異常出現細胞数	出現頻度 (%)	評 価		
				ギャップ	染色分体型			染色体型			断片	細粉化	その他					
					切断	交換	環	切断	多動原体	環								
非活性化	溶媒 (DMSO)	0.5%	24	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1.5	-	
	1,3-ジクロロ プロペン	34.68		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	-
		69.36		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-
		138.7		1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1.5	-
		194.2		3	2	2	0	1	0	0	2	0	0	0	10	5.0	±	
		277.5		6	25	27	1	0	0	0	1	0	0	0	47	23.5	+	
	陽性対照 (MMC)	0.4	8	54	62	4	0	0	2	16	2	0	106	53.0	+			
	溶媒 (DMSO)	0.5%	48	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-		
	1,3-ジクロロ プロペン	34.68		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-	
		69.36		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-	
138.7		3		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2.0	-		
194.2		1		0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	4	2.0	-		
277.5		7		1	9	1	1	4	2	3	1	0	26	13.0	+			
陽性対照 (MMC)	0.4	28	128	132	30	0	0	2	44	0	0	178	89.0	+				

代謝 活性化 の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処理 時間	異常を有する細胞数/200 (陽性対照/100)										総異常出現細胞数	出現頻度 (%)	評 価		
				ギャップ	染色分体型			染色体型			断片	細粉化	その他					
					切断	交換	環	切断	多動原体	環								
活性化	溶媒 (DMSO)	0.5%	6+12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		69.36		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	-	
		138.7		0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1.5	-	
		194.2		0	3	8	2	0	0	0	2	3	0	0	17	8.5	±	
		277.5*	2.7	5.2	15.8	6.5	0	0	0	2.7	0	0	0	26.2	13.1	+		
	陽性対照 (MMC)	0.4		10	22	78	22	0	2	2	14	0	0	100	50.0	+		
	溶媒 (DMSO)	0.5%	6+18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	-	
		69.36		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
138.7		0		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-		
194.2		2		11	16	3	0	0	0	3	0	0	0	24	12.0	+		
277.5		10	29	50	4	0	0	0	10	0	0	0	67	33.5	+			
陽性対照 (MMC)	0.4		14	38	100	28	0	2	2	22	0	0	124	62.0	+			

*著しい分裂阻害のため、良好な中期分裂像を 200個観察できなかった (117個)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

代謝 活性化 の有無	薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	処理 時間	異常を有する細胞数/200 (陽性対照/100)										総異常出現細胞数	出現頻度 (%)	評 価	
				ギャップ	染色分体型			染色体型			断片	細粉化	その他				
					切断	交換	環	切断	多動原体	環							
活性化	溶媒 (DMSO)	0.5%	6+12	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	-
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3	1.5	-
		69.36		0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1.0	-
		138.7		2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	5	2.5	-
		194.2		3	4	9	1	0	1	0	5	0	0	0	20	10.0	+
		277.5		6	6	9	3	0	0	0	4	1	0	0	24	12.0	+
	陽性対照 (MMC)	0.4	22	22	70	10	0	0	0	18	0	0	104	52.0	+		
	溶媒 (DMSO)	0.5%	6+18	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.0	-	
	1,3-ジクロロプロペン	34.68		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		69.36		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5	-	
138.7		3		0	3	2	0	0	1	6	2	0	15	7.5	±		
194.2		6		8	17	2	0	0	1	5	8	0	37	18.5	+		
277.5*		3.3		35.3	58.3	18.3	0	2	4	12.7	1	0	80.7	40.4	+		
陽性対照 (MMC)	0.4	10	34	88	28	0	0	4	28	0	0	106	53.0	+			

* 著しい分裂阻害のため、良好な中期分裂像を 200個観察できなかった (175個)

⑫チャイニーズハムスター卵巢細胞(CHO)を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(資料No.B-29)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1989年

検体の純度:

方 法: チャイニーズハムスター卵巢由来の培養細胞(CHO-K1)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S9)の存在下及び非存在下で試験を実施した。
試験前に濃度設定の為に増殖抑制試験を実施した。

溶媒対照にはアセトン、陽性対照にはメタンスルホン酸メチル(MMS)及びシクロホスファミド(CP)を用いた。可能な限り、各濃度で300個の分裂中期像を観察した。

細胞採取2時間前にコルセミド(0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を加えた。

染色体異常を、数的異常(倍数体及び核内倍加)と構造異常(ギャップ、切断、断片、交換、二動原体、転座、環状染色体及び重篤な損傷)に分類し計測した。ギャップは、染色分体型と染色体型に分けた。また、細胞500個あたりの有糸分裂指数(mitotic index, MI)も記録した。

結 果: 結果を次項以降の表に示した。

検体投与群において、S9 mix 非存在下24時間処理では、約50%の細胞増殖抑制を示したレベルの濃度(最高濃度、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$)を含め、染色体異常の発現頻度増加は認められなかった。MIの低下が最高濃度でのみ認められた。

一方、陽性対照MMSでは顕著な染色体異常の増加が認められた。

S9 mix 存在下3時間処理では、2.5及び5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ でギャップ、切断及び交換の増加が認められ、用量相関性もみられた。5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では、ギャップを除く異常を有する細胞の割合が溶媒対照に対し23倍の増加を、ギャップを含む異常を有する細胞の割合が3倍の増加を示した。MIに影響は認められなかった。陽性対照CPでは、顕著な染色体異常の増加が認められた。

以上の結果から、本試験条件下においてトランス-1, 3-ジクロロプロペンの *in vitro* 染色体異常誘発性は代謝活性化系存在下で陽性と判断された。代謝活性化系非存在下では陰性であった。

表1 試験結果まとめ

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix の有無	処理 時間	平均有糸 分裂指数 (MI)	観察 細胞 総数	倍数体 細胞を 除く細 胞総数	数的異常 倍数体細 胞(%)	構造異常					
								ギャップを除く			ギャップを含む		
								観察された 異常総数	細胞あたり の異常数	異常を有す る細胞(%)	観察された 異常総数	細胞あたり の異常数	異常を有す る細胞(%)
無処理対照	0	-	24	0.061	300	297	1.00	0	0	0	8	0.027	2.69
溶媒対照	0	-	24	0.060	300	298	0.67	0	0	0	18	0.060	5.37
検体	3	-	24	0.073	300	298	0.67	1	0.003	0.34	8	0.027	2.68
	15	-	24	0.057	300	300	0	1	0.003	0.33	17	0.057	5.00
	30	-	24	0.023	300	297	1.00	0	0	0	19	0.064	5.39
陽性対照(MMS)	20	-	24	0.026	300	299	0.33	47	0.157	12.71	71	0.237	17.73
無処理対照	0	+	3	0.040	300	299	0.33	1	0.003	0.33	12	0.040	4.01
溶媒対照	0	+	3	0.018	261	257	1.53	2	0.008	0.78	22	0.066	7.00
検体	0.5	+	3	0.035	259	253	2.32	0	0	0	10	0.400	3.56
	2.5	+	3	0.024	300	295	1.67	29	0.098	8.47	77	0.261	19.32
	5.0	+	3	0.029	300	299	0.33	70	0.234	17.73	112	0.375	23.41
陽性対照(CP)	60	+	3	0.044	300	298	0.67	22	0.074	6.71	41	0.138	12.75

表2 観察された異常総数

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix の有無	処理 時間	異常を有する細胞数/300												
				数的異常			構造異常									
				倍数体	核内倍加	染色分体 ギャップ	染色体 ギャップ	染色分体 切断	単一断片	染色体 断片	交換	二動原体	転座	環	重篤な 損傷	
無処理対照	0	-	24	3		8										
溶媒対照	0	-	24	2		15	1									
検体	3	-	24	2		7		1								
	15	-	24			14	1			1						
	30	-	24	3		16										
陽性対照(MMS)	20	-	24	1		20	1	10	4	8	19					1
無処理対照	0	+	3	1		11			1							
溶媒対照	0	+	3	4		17		1			1					
検体	0.5	+	3	4	2	8	1									
	2.5	+	3	5		32	6	10	1	2	13				2	
	5.0	+	3	1		24	3	12	6	8	38	1				
陽性対照(CP)	60	+	3	1	1	16	2	3	2	4	13					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑬マウスを用いた小核試験

(資料No. A-14)

試験機関：

報告書作成年：1982年

検体の純度：

試験動物：ICR系雄マウス(10週, 体重34~42g 令) 1群6匹

試験期間：1982年7月16日~1982年8月13日

試験方法：

設定予定濃度(ppm)	79	158	315	630
平均実測濃度(ppm)	80	170	340	658

暴露条件；チャンバー 120ℓ 換気回数15回/時間

検体を加温により気化させ、発生した気体を清浄空気希釈し、上部よりチャンバー内に導入し下部より排出するone pass方式で供給した。暴露は4時間、1回のみ全身暴露とした。

対照物質；陰性対照としては、空気のみ暴露。

陽性対照として、蒸留水に溶解したトリエチレンメラミンを0.5 mg/kg (10ml/kg) の用量で1回腹腔内投与した。

標本作製；小核を観察するため、暴露終了24時間後大腿骨より骨髓細胞得、その塗抹標本作製した。340ppm群については、48時間及び72時間後にも同標本作製した。標本メタノール固定後50%May-Grünwald液及び2.5%Giemsa液で染色した。

試験項目及び結果

中毒症状；暴露開始10分後、170ppm以上の濃度群で、全例に流涙とうずくまり658ppm群では半数に閉眼、流涎を、20分後には他の群でも約半数に閉眼、流涎を認めた。1時間後には658ppm、340ppm群で、手足、耳介、尾に紅潮を、2時間後には170ppm群を含めて立毛を認めた。また、658ppm群

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

では暴露終了時に軟便、努力性呼吸の例を認めた。暴露終了1時間後には170ppm、80ppm 群ではほぼ全例が正常にまで回復したのに対し、658ppm、340ppm群では被毛不良、乾性ラッセル音、流涙痕、流涎痕を認めた。さらに658ppm群では自発運動の低下、腹ばい、腹部の膨満、軟便痕を認めた。

暴露終了2時間後においても、658ppm、340ppm群では、症状の回復が認められなかった。

死亡は658ppm群で4例認められた。

体 重 ; 僅かな体重減少がみられたものの陰性対照群と変らなかった。

多染性赤血球出現頻度及び小核をもつ赤血球数と出現頻度 ;

処 理 群	処 理 濃 度	骨髄細胞 回収時期 (時間)	*1 多染性赤血 球出現頻度 (%±s. e.)	*2 小核を持つ赤血球数と出現頻度 多染性赤血球 正染性赤血球 全赤血球 (%±s. e.)		
				4	1	5
陰性対照群	0	24	35.1±1.93	(0.67 ±0.2)	(0.17 ±0.17)	(0.83±0.31)
陽性対照群 (TBM)	0.5mg/kg	24	28.2±2.48	322 *	5	327*
検 体 群 (LC ₅₀ ×1/8)	80ppm	24	36.8±1.12	(1.33 ±0.21)	(0.5 ±0.22)	(1.83±0.17)
(LC ₅₀ ×1/4)	170ppm	24	37.5±1.61	(1.17 ±0.31)	(0.33±0.33)	(1.5 ±0.43)
(LC ₅₀ ×1/2)	340ppm	24	38.1±1.17	(1 ±0.26)	(0.17±0.17)	(1.17 ±0.40)
		48	31.5±1.81	(0.67 ±0.33)	(0.67±0.21)	(1.5 ±0.22)
		72	36.8±2.22	(0.83 ±0.31)	(0.67±0.21)	(1.5 ±0.22)
(LC ₅₀)	658ppm	24	27.3±6.3	(1)	(1.5)	(2.5)

*1 L- 検体(*有意差あり; P<0.01)

*2 Kastenbaum とBowmanの推計額的方法(*有意差あり; P<0.01)

本剤は小核を誘起せず、*in vivo*染色体異常誘発性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑭マウスを用いた小核試験

(資料No. C-27)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1985年

検体の純度:

試験動物: CD-1 (ICR) BR 系マウス

方法: 検体を38, 115 及び380mg/kgとなるようコーン油に溶解して単回強制経口投与した。陰性対照はコーン油, 陽性対照はシクロホスファミド120mg/kgを投与した。1群5匹ずつに分け、投与後24及び48時間後に屠殺し、骨髄サンプルを採取して塗抹標本を作成した。標本中の多染性赤血球を動物個体あたり1000個について観察し、小核を持つ多染性赤血球 (MN-PCE) と正染性赤血球 (MN-NCE) を記録した。また PCE : NCE の骨髄中の比率は赤血球 200個について観察した。

結果:

薬物	用量 (mg/kg)	24 時間				48 時間			
		動物数	PCE 数	MN-PCE	PCE %	動物数	PCE 数	MN-PCE	PCE %
陰性対照	—	5	5000	1.0 ±1.0	56.8 ±6.9	5	5000	1.2 ±0.4	57.3 ±3.1
検体	38	5	5000	1.6 ±1.5	56.8 ±1.9	5	5000	0.6 ±0.9	61.5 ±5.0
	115	5	5000	1.4 ±1.1	55.1 ±9.9	5	5000	0.6 ±0.9	61.6 ±3.2
	380	4	4000	1.8 ±1.5	60.3 ±2.5	2	2000	1.5 ±2.1	52.0 ±7.8
陽性対照	120	5	5000	47.0↑ ±11.0	34.1 ±7.3				

↑ : p<0.01, 順位検定

検体のいずれの濃度、時間においても、MN-PCEの出現頻度に有意な差はみられなかった。

一方、陽性対照群では、有意な増加がみられた。

以上より、本被験物質は、マウスの骨髄小核試験で陰性であると判断された。

⑮ マウスを用いた吸入投与による小核試験

(資料 No. B - 30)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

検体の純度:

供試動物: CD-1 マウス雄

方法: 検体を 150、300 及び 600 ppm で 4 時間、鼻部吸入暴露した。暴露濃度は、当該試験内で実施した用量設定試験において 1000 ppm で死亡例がみられ、500 ppm では死亡例はなく臨床兆候が認められたことを根拠に設定した。暴露気発生時の安定剤として相当量(約 8.4%)のエデノール(エポキシ化大豆油)を添加して暴露を行った。安定剤分を考慮した補正濃度は、それぞれ 135、268 及び 535 ppm であった。陰性対照には検体濃度 0 ppm で同様に暴露し、陽性対照にはマイトマイシン C (MMC) を 0.75 mg/kg 体重で単回腹腔内投与した。動物数は、最高濃度群及び陰性対照群については各 10 匹、残りの群については各 5 匹とした。暴露開始後 24 時間に各群 5 匹を、48 時間後に最高濃度群及び陰性対照群の残り各 5 匹を屠殺し、骨髄サンプルを採取して塗抹標本を作成した。標本中の多染性赤血球(PE)を動物個体あたり 2000 個について観察し、小核を持つ多染性赤血球(MPE)を記録した。また、赤血球(E) 200 個あたりの PE 数についても記録した。

結果: 次表に示す。

薬物	濃度 (ppm)	MPE/2000PE		PE/200E	
		24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
陰性対照	0	2.4 ± 1.1	3.2 ± 1.6	117.8 ± 11.4	119.8 ± 15.9
検体	150	2.4 ± 1.1	-	114.6 ± 20.6	-
	300	2.4 ± 1.1	-	106.6 ± 3.6	-
	600	2.2 ± 0.8	2.0 ± 1.6	102.2 ± 9.5	104.2 ± 18.9
陽性対照 (MMC)	0.75 (mg/kg)	44.2 ± 8.6***	-	95.0 ± 6.3**	-

-: 該当なし、t 検定: ** p<0.01、*** p<0.001

暴露中、検体暴露群では呼吸数の低下が認められた。暴露終了後の臨床兆候として、最高濃度群の数例では眠気、立毛、不規則呼吸及び眼瞼痙攣が観察されたが、他の群ではみられなかった。体重については、陰性対照群との比較において、明確な影響は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は I,3-D 技術協議会にある。

検体暴露群のいずれの濃度、採取時間においても、MPE 出現頻度の統計学的に有意な増加は認められなかった。しかしながら、PE 出現頻度には弱いものの統計学的に有意な負の傾向 ($p < 0.05$) が認められ、用量相関的な骨髄への毒性影響が示唆されたことから、骨髄細胞への適切な暴露が行われたことが示された。陽性対照群では、MPE 発現頻度の有意な増加及び PE 出現頻度の有意な減少が認められた。

以上の結果から、本試験条件下において
骨髄細胞における小核誘発性は陰性と判断された。

のマウス

⑯ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成試験

(資料No. C-28)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1985年

検体の純度:

方法: Fischer 344 系雄ラットの肝細胞を初代培養し、DNA損傷を調べた。検体は、DMSOに溶解させてから、牛胎仔血清を含むWilliams培地E (WE) (3-H-チミジン $10\mu\text{Ci/ml}$ を含む) で、 3×10^{-3} , 1×10^{-3} , 3×10^{-4} , 1×10^{-4} , 3×10^{-5} , 1×10^{-5} , 3×10^{-6} 及び $1 \times 10^{-6}\text{M}$ の各濃度に調整した。陰性対照として、DMSOのみを投与した培養を用いた。また、陽性対照として、2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)を 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 及び 10^{-7}M の各濃度で用いた。培養細胞に検体及び対照を処理し、18時間インキュベートした後、細胞をスライドガラスにのせてオートグラフィーにかけ、NTB各痕跡検出用写真乳剤で覆い、10日間冷蔵保存した。露光終了後に標本を現像し、ヘマトキシリン・エオジンで染色し核内の粒子を数えた。

結果:

薬物	濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	差引き核粒子数 a mean \pm S. D.	
陰性対照 ($10\mu\text{l}$ 添加)	0	-3.8 ± 3.6	1.4 ± 3.2
2-AAF	1×10^{-4}	$78.1 \pm 27.1 \uparrow d$	$80.1 \pm 17.2 \uparrow d$
	1×10^{-5}	$56.6 \pm 13.3 \uparrow d$	$86.5 \pm 22.1 \uparrow d$
	1×10^{-6}	$56.3 \pm 20.8 \uparrow d$	$54.6 \pm 12.8 \uparrow$
	1×10^{-7}	6.4 ± 5.1	4.8 ± 3.7
検体	$3 \times 10^{-3} b$	-C	$-0.7 \pm 0.9 d$
	1×10^{-3}	$-1 \pm 1.0 d$	$0.5 \pm 3.8 d$
	3×10^{-4}	$-3.5 \pm 3.7 d$	$-1.2 \pm 2.2 d$
	1×10^{-4}	$-7.4 \pm 7.3 d$	$-2.9 \pm 3.5 d$
	3×10^{-5}	$-12.1 \pm 8.1 d$	$-2.8 \pm 2.3 d$
	1×10^{-5}	$-5.4 \pm 4.3 d$	$-3.0 \pm 3.0 d$
	3×10^{-6}	-3.5 ± 2.8	$-4.1 \pm 3.6 d$
	1×10^{-7}	-3.1 ± 3.0	$-2.4 \pm 2.7 d$

- a. $n=150$ 差引核粒子数 = (核粒子数) - (細胞質粒子数)
 b. 培養液中に沈澱が認められる。 c. 細胞毒性、評価できず。
 d. 細胞毒性
 \uparrow . 陽性反応、核粒子数が6以上または統計学的有意差 ($p < 0.05$)

本試験で用いたすべての検体濃度において不定期DNA合成の誘発は認められなかった。これに対して2-AAFでは 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , $1 \times 10^{-6}\text{M}$ の各濃度で、陰性対照に比べ、不定期DNA合成の著しい増加が認められた。

以上の結果から、本剤は、この系においてDNA損傷による修復を引き起す変異原性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑰チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞を用いた前進変異試験

(資料No. C-29)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1986年

検体の純度:

方法: チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞 (CHO-K₁-BH₄) を用いて変異細胞出現率をラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で検定した。検体を溶解させるため、DMSOを用いた。検体の濃度は細胞の生育抑制を調べる予備試験の結果に基づき決定した。各用量について、コロニー形成可能な細胞100万個あたりの変異細胞数を算出し、その結果を増加1次あるいは2次トレンドで統計的に評価した。少なくとも3段階の濃度で有意な濃度依存的増加がみられた場合、陽性と判定した。

結果:

薬物	濃度 (μM)	S-9Mixの有無	相対的細胞生存率 (%)	生存率%	変異細胞出現率 ^a
対照(DMSO)	—	—	100	72	13.1
検体	50	—	94	68	4.8
	100	—	19	86	27.8
	125	—	106	77	8.3
	150	—	110	80	14.0
	200	—	70	51	23.2
陽性対照(EMS)	3 mM	—	104	75	580.5
対照(DMSO)	—	+	100	89	19.0
検体	50	+	98	88	12.8
	100	+	69	61	15.0
	125	+	68	60	29.7
	150	+	48	43	15.4
	200	+	14	13	18.7
陽性対照(MCA)	18.6	+	84	75	142.9

a) : 10⁶個あたりの変異細胞出現率 EMS: ethyl methanesulfonate
MCA: 3-methylcholanthrene

最初に50, 100, 150, 200及び250 μM の濃度で代謝活性化系非存在下で試験を行った。その結果、最高濃度の200及び250 μM で、変異細胞の出現率が増加した。しかし、これら高濃度では、細胞生存率はそれぞれ3%, 1%と低下したため、この結果の生物学的意義は疑わしい。

同じ濃度で再試験を行ったが、いずれの濃度においても突然変異頻度の増大は観察されなかった。

さらに50, 100, 150, 200 μM の濃度で3度目の実験を行った(前頁表)。この濃度では、代謝活性化存在下、非存在下においても、変異細胞出現率の有意な増大は認められなかった。

以上の結果、1,3-ジクロロプロペン は代謝活性化を用いた本試験条件下では変異原性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑬トランスジェニック Big blueマウスを用いた突然変異試験

(資料No. C-30)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1997年

検体の純度:

方法: 検体の lac I 遺伝子に対する遺伝子変異誘発性を検索するため、トランスジェニック Big Blue マウスを用いて試験を行った。動物は、8週令で、本系統のマウスを用いた理由を以下に示す。

- 1) 組織に対する遺伝子変異の検出に適している。
- 2) 毒性試験一般に適している。
- 3) 突然変異頻度の背景データが豊富である。
- 4) 本剤の慢性毒性試験に使用した系と近い関係にある。

先に実施した吸入暴露によるラット及びマウスの慢性毒性・発がん性試験(資料No.C-21、C-22)の結果、マウスの雄の最高用量群(600ppm)で、肺細気管支肺胞腺腫の発生頻度が対照群と比べて増加した。

本試験では、さらに高い用量を用いて、本剤の肝と肺における遺伝子突然変異誘発性を検索した。

暴露条件: 全身暴露

設定濃度(ppm)	0	10	60	150
実測濃度(ppm)	0.0	10.5	59.6	150.4
チャンバー内通気量(l/分)	450.14	451.68	451.37	448.61

チャンバー容積: 1.872m³

暴露期間: 2週間(6時間/日, 5日/週)暴露。その後、17日間、暴露を停止して、通常の状態に飼育した。この17日間は、DNA損傷がおきた場合、その部位が固定し、突然変異という表現型になるために必要な期間(発現期間)である。

試験項目及び結果:

一般状態: 一般状態を毎日観察した。

60ppm以下の群で異常は認められなかった。

150ppm群では、一時的に、自発運動の低下がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

体重及び体重変化；全動物の体重を暴露期間中，1，4，8 及び12日目に，また，その後の発現期間中の3，10 及び14日目に測定した。
体重に検体投与の影響は認められなかった。

lac I 遺伝子突然変異の検索；肝と肺を，対照群及び最高用量群(150ppm)より採取し， -80°C に冷凍保存した。冷凍サンプルをホモジナイズして，1100g rpm で12分間遠心して核を分離した。さらに，プロテアーゼK溶液及び消化緩衝液に 50°C で45分間浸し，一晚，TE緩衝液で透析し，DNAを抽出した。抽出したDNAを， 30°C で90分，2回，Tranpackを用い，バクテリオファージに封入した。この封入バクテリオファージの内，変異を起こしたDNAを持つものは，青色を呈して増殖する。各プレートで，青色のプラーク数/総プラーク数の比を計算して，遺伝子突然変異誘発性の有無を検定した。なお，陽性対照には，ジニトロソアミン 15mg/kgを5日間連続投与した同種マウスを用いた。

結 果：

群	匹数	突然変異プラーク数/総プラーク数 ($\times 10^{-5}$)	
		肝	肺
陰性対照	5	10.3 \pm 4.3	13.3 \pm 3.5
検体150ppm群	5	9.9 \pm 3.9	11.2 \pm 1.9
陽性対照	1	134.7	59.8

上記結果で，検体暴露により，lac I 遺伝子突然変異誘発性を検索したが突然変異発生頻度は，陰性対照群と検体暴露群では差がなかった一方，陽性対照群では明らかな増加が認められた。

以上の結果より，1,3-ジクロロプロペンは肝及び肺に遺伝子突然変異誘発性をもたないものと判断された。

⑱ラットを用いた吸入投与による優性致死試験

(資料 No. C-44)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

検体純度:

供試動物: Sprague-Dawley 系 CD ラット

雄 1 群各 30 匹、投与開始時 約 11 週齢、体重 群平均約 365 g

雌 1 群各交配期各 60 匹 交配開始時 約 12 週齢

試験方法: 雄生殖細胞の成熟過程(精子形成)の全段階において優性致死を評価すること、雌動物数を最小限に抑えること及び再現性を確認するため、10 週間連続投与後に 2 回の交配期間を設けた。

投与方法: 供試雄動物を個別ケージに収容し、14.5 m³ 容のピラミッド型暴露室内で、全身暴露により、0、10、60 及び 150 ppm の検体濃度で、1 日 6 時間ずつ 10 週間、連続して暴露した。投与濃度は、同系統雄ラットを用い、検体蒸気に 1 日 6 時間ずつ 4 週間暴露した試験(1996 年)に基づき設定した。陽性対照にはシクロホスファミド-水和物(CP)を用い、75 mg/kg の用量で交配開始の 48 時間前に単回強制経口投与した。また、高濃度(150 ppm)群では摂餌量の低下が予測されるため、別途、摂餌量抑制(対照)群を設け、暴露開始直後の 1 週間における 150 ppm 群の摂餌量に基づく期間平均摂餌量を推定し、10 週間給餌した。

交配及び検査項目: 交配期間終了時に、雄 1 匹に対して雌 2 匹を配置して 1 週間同居(第 1 週交配)させた後、さらに次の 1 週間、別の雌 2 匹と同居(第 2 週交配)させた。各交配期間終了の 13 日後、雌動物を屠殺して子宮角及び卵巣を取り出し、黄体数、着床数及び位置、生存胚数、吸収(死亡)胚数及び位置、着床痕の有無を検査(妊娠兆候がみられない動物が対象)し、以下の指標について評価した。

授精率(%) = [妊娠させた雄の数 / 雌と同居した雄の数] × 100

*: 雌 2 匹の内、少なくとも 1 匹を妊娠させた雄の数

妊娠率(%) = [妊娠雌数 / 雌と同居した雌の数] × 100

着床前損失(%) = [黄体数 - 着床数] × 100 / 黄体数

着床後損失(%) = [吸収胚数 / 着床数] × 100

検体は雄のみに投与したが、各検査項目について、雄あたり及び雌あたりで算出した。雄 1 匹あたりの黄体数、吸収胚数及び着床数は雌 2 匹の合計を用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

観察項目；雄の一般状態及び生死を毎日観察した。雄の体重は、投与開始 4 日前、10 週間の投与期間中週 1 回及び交配時（79 及び 85 日）に測定した。雄の摂餌量は 10 週間の投与期間中週 1 回測定した。交配期間終了後、屠殺して精巣及び精巣上体をブアン液中に固定したが、優性致死試験の結果から、組織学的検査の実施は必要ないと判断された。

結 果：

検体気中濃度；時間加重平均(TWA)は、設定濃度 0、10、60 及び 150 ppm に対して、それぞれ 0.0、10.1、60.1 及び 149.6 ppm であった。

一般状態、体重及び摂餌量；暴露期間中の第 2 週に 60 ppm 投与群の雄 1 匹が死亡した。剖検においてこの系統の動物に特異的な所見はなく、検体に関連しないと考えられた。他に死亡は発生せず、検体に起因する状態の異常も観察されなかった。

無投与対照群と比較して、150 ppm 投与群の体重は、暴露期間を通じて顕著に減少し、また、60 ppm 投与群及び摂餌量抑制群では時として軽度に減少して統計学的有意差($p < 0.05$)が認められ、150 ppm は最大耐容量(MTD)に達したと考えられた。暴露期間終了時(第 70 日)の群平均体重は、対照群、10、60、150 ppm 投与群、陽性対照群及び摂餌量抑制群で、それぞれ 501.6、499.4、474.8、389.9、530.2、463.9 g であった。

摂餌量は、対照群と比較して、150 ppm 群は暴露開始から数週間、60 ppm 群では暴露開始第 1 週に低下した。第 1 週の群平均摂餌量は、対照群、10、60、150 ppm 投与群及び陽性対照群で、それぞれ 25.7、25.6、21.2、17.9、25.9 g/日であった。

生殖検査項目；各交配期間の着床データを表 1 に、雄あたり及び雌あたりの黄体数、着床数、授精率あるいは妊娠率を表 2 に示す。

第 1 週の交配及び第 2 週の交配、いずれにおいても雄の授精率及び雌の妊娠率に検体投与の影響は認められなかった。150 ppm 投与群では、第 1 週交配における雄あたりの黄体数が対照群より減少して有意差が認められたが、第 2 週交配では対照群と同等で、偶発的な差異と考えられた。着床数、着床前胚損失、吸収胚数及び生存胚数についても、検体投与の影響は認められなかった。

摂餌量抑制群は、無処置対照群と比べて有意差を伴う変化はみられなかった。

一方、陽性対照群では、雄の着床後損失胚の割合が顕著に増加し、また、生存胚数の減少にも有意差が認められた。

以上の結果から、検体はラットを用いた優性致死試験において、胚致死を引き起こさず、生殖細胞に影響しないと判断される。

表 1. 着床データ

交配時期	暴露濃度(ppm)		0	10	60	150	陽性対照 ^a	摂餌量抑制	
第1週	着床前損失胚の割合(%)		6.9	4.8	12.2	4.8	6.8	8.6	
	着床後損失胚の割合(%)		5.4	4.9	6.3	6.2	21.9*	8.5	
	着床前損失が認められた雄の割合(%)及び動物数		70.0 (21/30)	50.0 (15/30)	82.8 (24/29)	58.6 (17/29)	60.7 (17/28)	63.3 (19/30)	
	着床後損失が認められた雄の割合(%)及び動物数		80.0 (24/30)	80.0 (24/30)	72.4 (21/29)	69.0 (20/29)	100.0 (28/28)	76.7 (23/60)	
	吸収胚が観察された雌の割合(%)及び動物数/雌総数	吸収胚数/雌	0	48.3 (28/58)	42.9 (24/56)	44.2 (23/52)	46.2 (24/52)	9.3 (5/54)	53.5 (31/58)
			1	27.6 (16/58)	50.0 (28/56)	32.7 (17/52)	28.9 (15/52)	18.5 (10/54)	27.6 (16/58)
			2	20.7 (12/58)	3.6 (2/56)	15.4 (8/52)	11.5 (6/52)	14.8 (8/54)	5.2 (3/58)
			3	1.7 (1/58)	3.6 (2/56)	3.9 (2/52)	7.7 (4/52)	20.4 (11/54)	3.5 (2/58)
			4	1.7 (1/58)	0 (0/56)	3.9 (2/52)	5.8 (3/52)	16.7 (9/54)	5.2 (3/58)
			5以上	0 (0/58)	0 (0/56)	0 (0/52)	0 (0/52)	20.4 (11/54)	5.2 (3/58)
第2週	着床前損失胚の割合(%)		6.6	6.8	10.1	4.5	13.5*	6.1	
	着床後損失胚の割合(%)		5.9	5.2	5.4	3.5*	57.5*	4.7	
	着床前損失が認められた雄の割合(%)及び動物数		60.0 (18/30)	56.7 (17/30)	89.7 (26/29)	55.2 (16/29)	100.0 (29/29)	69.0 (20/29)	
	着床後損失が認められた雄の割合(%)及び動物数		80.0 (24/30)	76.7 (23/30)	72.4 (21/29)	48.3 (14/29)	100.0 (29/29)	69.0 (20/29)	
	吸収胚が観察された雌の割合(%)及び動物数	吸収胚数/雌	0	37.5 (21/56)	47.3 (26/55)	49.1 (28/57)	67.3 (35/52)	1.9 (1/54)	48.2 (26/54)
			1	39.3 (22/56)	32.7 (18/55)	26.3 (15/57)	21.2 (11/52)	3.7 (2/54)	37.0 (20/54)
			2	19.6 (11/56)	16.4 (9/55)	19.3 (11/57)	5.8 (3/52)	3.7 (2/54)	14.8 (8/54)
			3	3.6 (2/56)	3.6 (2/55)	5.3 (3/57)	3.9 (2/52)	5.6 (3/54)	0 (0/54)
			4	0 (0/56)	0 (0/55)	0 (0/57)	1.9 (1/52)	3.7 (2/54)	0 (0/54)
			5以上	0 (0/56)	0 (0/55)	0 (0/57)	0 (0/52)	81.5 (44/54)	0 (0/54)

^a 陽性対照：シクロホスファミド(CP) 75mg/kg 単回経口投与

* : Wilcoxon test p<0.05

表 2. 雄あたり及び雌あたりの黄体数、着床数、授精率あるいは妊娠率

交配時期	計算対象	暴露濃度 (ppm)	0	10	60	150	陽性対照 ^a	摂餌量抑制
第1週	雄	検査動物数	30	30	29	29	28	30
		黄体数	15.8	15.1	16.2	14.9* ⁺	15.9	15.6
		着床数	14.8	14.5	14.3	14.6	14.9	14.3
		着床前損失胚数	1.1	0.8	2.0	0.8	1.2	1.4
		吸収胚数	0.8	0.7	0.9	0.9	3.3	1.1
		生存胚数	14.0	13.8	13.5	13.6	11.6*	13.3
		授精率(%)	100.0	100.0	100.0	96.7	96.7	100.0
第2週	雄	検査動物数	30	30	29	29	29	29
		黄体数	15.3	15.2	16.2	15.0	14.6	15.0
		着床数	14.4	14.3	14.6	14.3	12.6*	14.2
		着床前損失胚数	1.0	1.1	1.7	0.7	2.0	0.9
		吸収胚数	0.9	0.8	0.8	0.5	7.2	0.7
		生存胚数	13.6	13.5	13.8	13.8	5.4*	13.6
		授精率(%)	100.0	100.0	100.0	96.7	96.7	96.7
交配時期	計算対象	暴露濃度 (ppm)	0	10	60	150	陽性対照 ⁺	摂餌量抑制
第1週	雌 ^b	検査動物数	58	56	52	52	54	58
		黄体数	15.8	15.2	16.2	15.1	15.9	15.6
		着床数	14.8	14.5	14.6	14.6	14.8	14.3
		着床前損失胚数	1.1	0.8	1.7	0.8	1.2	1.4
		吸収胚数	0.8	0.7	0.9	1.0	3.3	1.1
		生存胚数	14.0	13.8	13.7	13.7	11.5	13.3
		妊娠率(%) 及び動物数	98.3 ^c (59/60)	93.3 (56/60)	89.7 (52/58)	86.7 (52/60)	91.7 ^c (55/60)	98.3 ^c (59/60)
第2週	雌 ^b	検査動物数	56	55	57	52	54	54
		黄体数	15.3	15.1	16.2	14.9	14.7	15.0
		着床数	14.4	14.2	14.5	14.2	12.6	14.3
		着床前損失胚数	1.1	1.1	1.7	0.7	2.1	0.9
		吸収胚数	0.9	0.8	0.8	0.5	7.1	0.7
		生存胚数	13.5	13.4	13.7	13.7	5.6	13.6
		妊娠率(%) 及び動物数	93.3 (56/60)	91.7 (55/60)	98.3 (57/58)	86.7 (52/60)	90.0 (54/60)	90.0 ^d (54/60)

a 陽性対照：シクロホスファミド(CP) 75mg/kg 単回経口投与

* : Wilcoxon test $p < 0.05$ (対無処置対照群)

+ : Wilcoxon test $p < 0.05$ (対摂餌量抑制群)

b : 雌の検査項目は妊娠率についてのみ有意差検定した(有意差は認められなかった)。

c : 妊娠率以外の検査項目で、数値が「外れ値」と考えられて計算から除外された3動物を含む。

d : 妊娠率以外の検査項目で、数値が「外れ値」と考えられて計算から除外された1動物を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

(12) 生体機能影響

①1,3-ジクロロプロペンの一般薬理試験

(資料No. C-32, B-23)

試験機関:

報告書作成年: 1991年

検体の純度:

①中枢神経系に対する作用

i) マウスの経口投与による一般症状

供試動物: ddY 系雄マウス、体重: 25~35g、1群3匹

方法: 検体をコーン油で溶解して0, 3, 10, 30, 100, 300および1000 mg/kg を投与し、Irwinの多次元観察法に準じて一般症状を投与後30分、1, 2, 3および4時間に観察した。

結果: 30mg/kg 以下では異常症状が認められなかった。100及び300mg/kg では、グルーミングおよび自発運動の低下が観察された。1000mg/kg では全例が死亡した。全群で下痢が観察された。

ii) マウスの静脈内投与による一般症状

供試動物: ddy 系雄マウス、体重: 25~35g、1群3匹

方法: 検体を5%グルコース水溶液に均一分散して、0, 1.0, 3.0, 10, 30, 100 及び300mg/kgを投与し、Irwin の多次元観察法に準じて一般症状を投与後15, 30分および1時間に観察した。

結果: 10mg/kg 以下では異常症状が認められなかった。30及び100mg/kg では、グルーミング、触反応、自発運動および耳介反射の低下、また100mg/kgでは流涙および呼吸数の増加等が観察された。300mg/kg では全例が死亡した。

iii) マウスにおける睡眠延長時間

供試動物: ddY 系雄マウス、体重: 25~35g、1群8匹

方法: 検体をコーン油に溶解して、0, 30, 100, 300mg/kg を投与し、1時間後にヘキソバルビタール (80mg/kg)を腹腔内投与して睡眠時間を測定した。陽性対照群にクロルプロマジン10mg/kg を経口投与した。

結果: 300mg/kgでは、睡眠時間が1.6倍に延長し、統計学的有意差がみられた。
一方、クロルプロマジンでは、睡眠時間を2.3倍に延長した。

iv) 正常体温に対する作用

供試動物: Wistar系雄ラット、体重 180~230g、1群8匹

方法: 検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100 及び300mg/kgの用量で経口投与し、30分、1, 2, 4 及び6時間後に直腸温度を測定した。陽性対照としてクロルプロマジン20mg/kg を経口投与した。

結果: 全投与群で検体による影響はみられなかった。
一方、クロルプロマジンはラットの体温を有意に低下させた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

v) 痙攣誘発作用

供試動物：ddY 系雄マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100 及び300mg/kgの用量で経口投与し、1時間後に両角膜を痙攣誘発閾値よりやや低い電撃条件で刺激し、誘発される痙攣の有無を観察した。
陽性対照群にペンチレンテトラゾール40mg/kg を皮下投与し、15分後に電気刺激を行った。

結 果：検体投与に関連する影響はみられなかった。
一方、ペンチレンテトラゾールは痙攣の発生が有意に増加した。

vi) 抗痙攣作用

供試動物：ddY 系マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油で懸濁し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与し、1時間後にペンチレンテトラゾール150mg/kgを皮下投与し、発現する痙攣の有無を30分間観察した。陽性対照群にジアゼパムを5mg/kg を経口投与した。

結 果：300mg/kgで、強直性伸展痙攣の抑制が1例観察された。100mg/kg以下では検体による影響はみられなかった。
一方、ジアゼパムでは全例で痙攣抑制が認められた。

vii) 協調運動に対する作用

供試動物：ddY 系雄マウス、体重25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油に溶解して0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与し、1, 2および4時間後に回転棒にマウスを乗せ、1分以内に落下する場合は陽性とみなした。

結 果：検体による影響はみられなかった。

②ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

供試動物：日本白色種雄ウサギ、体重：2.5～3.0kg、4匹

方 法：検体を5%グルコース水溶液に均一分散し、0, 3, 10及び30mg/kgの用量で静脈内投与し、呼吸数/流量、血圧、心拍数、心電図を測定した。

結 果：血圧では、30mg/kg で低下傾向が認められ、心拍数は30mg/kgで4～7%の範囲で増加した。呼吸流量は10mg/kg 以上で低下傾向が認められ、呼吸数も10mg/kg 以上で増加傾向がみられた。心電図では、特に影響が認められなかった。

③自律神経系に対する作用

i) ラットの摘出輸精管に対する作用

供試動物：Wistar系雄ラット、体重：250～300g、1群4例

方 法：ラットを放血致死させた後、輸精管を摘出し、混合ガス（95%O₂ + 5% CO₂）を通気した32℃のKrebs-Henseleit液を含むマグヌス装置に懸垂した。収縮はノルエピネフリンまたは白金双極電極を介する経壁刺激により惹起させた。前処置時間はノルエピネフリン収縮に対しては5分とし、検体を生理食塩水に溶解して10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

ii) モルモットの摘出回腸に対する作用

供試動物：Hartley系雄モルモット、体重：300～350g、1群4例

方 法：モルモットを放血致死させた後、回腸を摘出した混合ガス（95% O₂ + 5% CO₂）を通気した32℃のKrebs-Henseleit液を含むマグヌス装置に懸垂した。収縮薬としてアセチルコリン、ヒスタミンおよびBaCl₂を添加した。検体は、生理食塩水に溶解し10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で収縮薬添加前5分に処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

④消化器系に及ぼす作用

i) 腸管輸送能に対する作用

供試動物：ddY系マウス、体重：25～35g、1群8匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与後1時間に5%アラビアゴム液に懸濁した5%炭末液（0.2 ml）を経口投与した。30分後に頸椎脱臼により致死させた後、胃腸管を摘出し、幽門部より回腸部までの長さに対する炭末到達部までの長さの割合から炭末の移動率を求めた。陽性対照群にアトロピン80mg/kgを経口投与した。

結 果： 100mg/kgで約15%、300mg/kgで約25%の亢進を示した。一方、アトロピンは約42%の有意な抑制を示した。

⑤骨格筋に対する作用

供試動物：Wistar系雄ラット、体重：250～300g、1群4例

方 法：ラットを放血致死した後、構隔膜を横隔膜神経と共に摘出して標本を作成し、混合ガスを通気した37℃のKrebs-Henseleit液を満したマグヌス装置に懸垂した。検体を生理食塩水で溶解し10⁻⁶～10⁻⁴Mの濃度で処置した。収縮は電気刺激装置を用いて神経および筋肉を交互に刺激することにより惹起させた。陽性対照群にd-ツボクラリンを処置した。

結 果： 検体による影響はなかった。

一方、d-ツボクラリンは、神経刺激による収縮を抑制した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

⑥ラットの血液系に対する作用

i) 溶血に対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100及び300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、ヘパリンを加え、血漿を得て、その吸光度から溶血の判定を行った。

結 果：30, 100及び300mg/kgでそれぞれ吸光度を34, 38及び15%低下させたが、30, 100mg/kgで統計学的有意差がみられ、300mg/kgでは有意差はみられなかった。

ii) 血液凝固に対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100及び300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、クエン酸ソーダを加え、血漿を得て、プロトロンビン時間及び活性トロンボプラスチン時間を測定した。

結 果：検体による影響はなかった。

⑦コリンエステラーゼに対する作用

供試動物：Wister系雄ラット、体重：190～240g、1群6匹

方 法：検体をコーン油に溶解し、0, 30, 100および300mg/kgの用量で経口投与後1時間に採血し、ヘパリンを加え、血漿を得て、D TNB法によりコリンエステラーゼを測定した。

結 果：検体による影響はなかった。

以上の結果より、1,3-ジクロロプロペンは経口投与で100mg/kg以下の投与量では生体に対してほとんど影響を及ぼさないが、高用量の300mg/kgになると自発運動の軽度な低下、軽度な抗痙攣作用および睡眠延長作用ならびに腸管輸送能の亢進等を起こすことが判明した。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 1) 一般症状 [Irwin 法] (マウス)	経口 (コーン油)	0, 3, 10, 30, 100, 300, 1000	雄 3	30	100	グルーミング及び自 発運動の低下などが みられた。
	静脈内 (5% グルコース 水溶液)	0, 1.0, 3.0, 10, 30, 100, 300	雄 3	10	30	グルーミング, 触反 応, 自発運動及び耳介 反射の低下などがみ られた。
2) 睡眠時間 延長(マウス)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 8	100	300	睡眠時間が、1.6 倍に 延長した。
3) 体温 (ラット)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
4) 痙攣誘発 (マウス)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
5) 抗痙攣 (マウス)				100	300	300mg/kg 群で 1 例, 強直性伸展痙攣の抑 制が認められた。
6) 協調運動 (マウス)				300	—	検体投与による影響 はみられなかった。
呼吸・循環器 1) 呼吸数・血 圧, 心拍数, 心電図(ウサ ギ)				静脈内 (5% グルコース 水溶液)	0, 3, 10, 30	雄 4
自律神経系 1) 輸出管に対 する作用 (ラット)	in vitro	$10^{-6} \sim 10^{-4}$ (M)	雄 4	10^{-4} M	—	検体投与による影響 はみられなかった。
消化器系 1) 腸管輸送能 (マウス)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 8	30	100	腸管輸送能の亢進が 認められた。
骨格筋 (ラット)	in vitro	$10^{-6} \sim 10^{-4}$ (M)	雄 4	10^{-4} M	—	検体投与による影響 はなかった。
血液系 1) 溶血作用 (ラット)	経口 (コーン油)	0, 30, 100, 300	雄 6	300	—	検体投与による影響 はなかった。
2) 血液凝固作 用(ラット)				300	—	検体投与による影響 はなかった。
コリンエステラ ーゼ(ラット)				300	—	検体投与による影響 はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

(13) その他

① 哺乳類細胞におけるグルタチオンSトランスフェラーゼ活性

(資料No. C-35)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

比較的高濃度のGSHないしGST活性をもつ動物、あるいは哺乳類細胞を用いた試験では、1,3-Dは迅速に解毒され

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I, 3-D 技術協議会にある。

② In vitro DNA 結合試験

(資料 No. C-36)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

以上より、1,3-D は、代謝活性化系の存在または非存在にかかわらず、*in vitro* で子牛胸腺 DNA に結合しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D 技術協議会にある。

③ラット及びマウスにおける腫瘍形成機序の検討

(資料No.C-37)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

慢性毒性・発がん性試験における各標的組織で細胞増殖及びアポトーシスの発現状況を調べたが、明らかな変化は認められなかった。また、本剤の処理により DNA 付加物の増加は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

④1,3-ジクロロプロペンの *In Vivo* 及び *In Vitro* 遺伝毒性の考察

(資料No. C-38)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

以上、1,3-D は *in vitro* で遺伝毒性を示すが、
ラット及びマウスにおいて1,3-D
により誘発された *in vivo* 遺伝子損傷は非特異的 DNA 鎖切断に限定され、DNA との
直接的相互作用によるものではないと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

1,3-ジクロロプロペンの遺伝毒性に関する申請者の考察

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D 技術協会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I, 3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、I, 3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑤1,3-Dichloropropene のラットを用いた肝臓腫瘍発生メカニズム試験

(参考資料 14-2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

以上の結果から、検体投与によりラットの肝臓で GST-P 陰性細胞巢の増殖を促進し、最終的に腺腫の発生に至ったものと推察される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑥ 1,3-Dichloropropene のマウスを用いた肺腫瘍発生メカニズム試験

(参考資料 14-4)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

以上の結果から、当該試験では VC 投与により生じた影響が大きかったため、VC により誘発された病変の進行に対する検体の影響は明らかにならなかったものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

⑦ラットを用いた混餌投与による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験

(資料 No. C-40)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

以上の結果から、本試験の無影響量 (NOEL) は 26.7mg/kg/日であると判断された。
また、検体には免疫毒性を有する証拠は示されなかった。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-11	動物体内における代謝 (投与方法としてのコーンオイル懸濁とマイクロカプセル化のバイオアベイラビリティ比較)	ラット	[¹³ C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコーンオイル懸濁液及び非標識 1,3-D マイクロカプセル化後コーンオイル懸濁液をそれぞれ 25 mg/2mℓ /kg の割合で雌ラットに強制経口投与。投与後 60 分まで血液及び 48 時間までの尿を採取し、異性体ごとの吸収・排泄定数、半減期、AUC 値を算出	投与 10 分以内に血中濃度ピークに達し、さらに投与 40 分以内にピーク濃度の 1/10 未満に低下。 血中濃度のピークレベル： マイクロカプセル化 > 従来コーンオイルトランス体の血中濃度のピークレベルがシス体よりも一貫して高い。 両異性体の吸収半減期： 1.3~4.7 分 両異性体の排泄半減期： 急速相 (α相) - 2.8~6.1 分 緩除相 (β相) - 27~43 分 AUC 値： マイクロカプセル化 > 従来コーンオイル	(1996)	10
M-12	動物体内における代謝	ラット マウス 代謝全般 (排泄・代謝物同定)	[¹⁴ C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコーンオイル懸濁液を雄ラットでは、1 及び 50 mg/5mℓ /kg の割合で雄マウスでは、1 及び 100 mg/5mℓ /kg の割合で単回強制経口投与した。投与後 48 時間までの尿、糞への排泄及び排泄物中の代謝物を検索した。	ラット・マウスともに投与量の 55% 以上尿として排泄。糞経由の排泄は、ラットで 9% 以下、マウスで 15.1% 以下であった。	(2002)	14

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX												
M-1	動物体内における代謝	ラット	<p>単回投与群では [^{14}C] 1,3-ジクロロプロペンのコーンオイル懸濁液を 5 mg/5ml/kg の割合で雌性ラットに経口投与した。反復投与群では同濃度の非標識 1,3-D 懸濁液を 14 日間反復経口投与したのち、15 日目に [^{14}C] 1,3-D を一回経口投与した。</p> <p>投与後 48 時間までの $^{14}\text{C}\text{O}_2$、尿、糞への排泄および 48 時間における各組織への残留を検索した。</p>	<p>排泄の主経路は投与回数および性に関わりなく尿中排泄で、投与放射能の約 54~65% が尿中に排泄された。糞中排泄は少なく投与量の 4~6% であった。$^{14}\text{C}\text{O}_2$ として 25~33% が排泄された。48 時間後の組織及びカーカスには投与量の 4~6% が残留した。平均回収率は雄 100%、雌 101% であった。</p>	(1988)	23												
M-13	動物体内における代謝	ラット マウス 代謝全般 (排泄及び組織の分布)	<p>[^{14}C] 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) のコーンオイル懸濁液を雄ラットでは、1 及び 50 mg/5ml/kg の割合で雄マウスでは、1 及び 100 mg/5ml/kg の割合で単回強制経口投与した。投与後 48 時間までの尿、糞、呼気への排泄及び主要組織中の分布を検索した。</p>	<p>排泄 (投与量%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>ラット</th> <th>マウス</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>51~61%</td> <td>63~79%</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>17~20%</td> <td>約 15%</td> </tr> <tr> <td>CO_2</td> <td>15~18%</td> <td>約 14%</td> </tr> </tbody> </table> <p>分析全組織及び残余カーカス 約 6% 約 2%</p> <p>ラット、マウスともに投与放射能体内からの排泄は、1 相性であり、半減期は 5~6 分</p>		ラット	マウス	尿	51~61%	63~79%	糞	17~20%	約 15%	CO_2	15~18%	約 14%	(1985)	30
	ラット	マウス																
尿	51~61%	63~79%																
糞	17~20%	約 15%																
CO_2	15~18%	約 14%																
M-14	吸入動態	ラット	<p>非標識 1,3-ジクロロプロペン (1,3-D) 蒸気を 30、90、300 及び 900ppm の濃度で雄ラットに 3 時間暴露。暴露部位：頭部限定、鼻部限定、外科的隔離した上部気道及び下部気道</p> <p>1,3-D の暴露量、両異性体 (シス、トランス体) の血中濃度</p> <p>測定。 暴露前、暴露後の呼吸回数、1 回呼吸気量を測定し、毎分呼吸量を計算</p>	<p>90ppm 以上群で呼吸回数の暴露濃度に相関した減少。300ppm 以上群で 1,3-D 代謝の飽和のため、暴露濃度に比例した 1,3-D の取り込みの増加認められず。</p> <p>1,3-D の吸収は、主として肺を経由で約 50%、さらに少量 (11~16%) が鼻粘膜を経由して行われた。</p> <p>1,3-D の両異性体の血流から排出は二相形式である； 急速相 ($t_{1/2}$: 300ppm 以下で 3~5 分、900ppm で 40 分) 緩徐相 ($t_{1/2}$ 30~40 分)</p>	(1985)	34												

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-2	植物体内に おける代謝	レタス 及び ホウレンソウ 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国Michigan州Midland ガウ・ケミカル Midland圃場 ②施用 0.3×1.8mの区画の両端 に作条を1本ずつ設定 し、各々に10cmおきに19 の注入口から ^{14}C -1,3-Dを20cmの深さに 337g/haの割合で処理 した。 ③播種 薬剤処理直後に作条の 片側にレタス、別の片側 にホウレンソウを播種 した。また25日後に2本 の作条の中央にレタス を1条播種した。 ④試料採取 ホウレンソウ 42日後 レタス(1) 57日後 レタス(2) 39日後 52日後 75日後 ⑤分析 均質化した試料を燃焼 して総残留 ^{14}C を定量 した。 揮発性 ^{14}C は水蒸気蒸 留して ^{14}C を定量し した。代謝生成物の ^{14}C は溶媒で抽出後HPLCで 分析した。	①総残留 ^{14}C 濃度 (^{14}C -1,3-D換算/湿重量) ホウレンソウ (42日) 1.9ppm レタス 1 (57日) 1.8ppm レタス 2 (39日) 1.3ppm レタス 2 (52日) 0.5ppm レタス 2 (75日) 0.3ppm ②残留成分の特徴 1,3-D は 水蒸気蒸留されるが、試 料の ^{14}C 残留成分のうち 揮発性 ^{14}C は2% 以下でこの画分の残 留は少量であった。 抱合体の有無を酸化水分 解で調べたが、抱合体は存 在しなかった。残留 ^{14}C は 植物の正常成分として取 り込まれたものであった。 HPLCで分析して1,3-ジク ロプロペン が 存在しないことを確認し した。	(1988)	45

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-3	植物体内に おける代謝	ダイズ 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国Michigan州Midland ガラケミカル Midland圃場 ②施用 0.3×1.8mの区画の両端 に作条を1本ずつ設定 し、各々に10cmおきに19 の注入口から ^{14}C -1,3-Dを20cmの深さに 337g/haの割合で処理 した。 ③播種 薬剤処理直後に作条の 片側にダイズを播種し した。また25日後および35 日後に2本の作条の中央 にダイズを1条播種し した。 ④試料採取 1回目播種 57日後 2回目播種 122日後 3回目播種 35日後 ⑤分析 均質化した試料を燃焼 して総残留 ^{14}C を定量 した。 揮発性 ^{14}C は水蒸気蒸 留して ^{14}C を定量し した。代謝生成物の ^{14}C は溶媒で抽出後、HPLC で分析した。	①総残留 ^{14}C 濃度 (^{14}C -1,3-D換算/湿重量) 青刈試料1 7.75 青刈試料2 2.84 茎+さや試料 5.37 マメ (対湿重) 5.18 (対乾重) 5.59 ②残留成分の特徴 1) 青刈試料 1,3-D は水蒸気蒸留されるが、青 刈試料の ^{14}C 残留成分の うち揮発性成分は 3% 以下で、残留量 は少量であった。HPLCで分 析して1,3-ジクロロプロ ペン が存在しな いことを確認した。 2) マメ 揮発性成分はごく微量で あった。 マメの成分を油脂、たんぱ く質に分画して放射能を 測定したところ脂肪酸お よびたんぱく質などの正 常な成分に同化されてい ることが確認された。	(1988)	50

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動 植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-4	植物体内に おける代謝	てんさい 土壌処理	^{14}C 1,3-ジクロ ロプロペンを用いた。 ①作物調製場所 米国California州Davis ダウ・ケカル 社圃場 ②施用 80×60cmの区画の中心 から15cm離れた両側に 10cm間で12ヶ所に25cm の深さに ^{14}C -1,3-Dを 25cmに 234g /ha の割 合で処理した。 ③播種 薬剤施用7日後にてんさい を播種した。 ④試料採取 播種159日後に収穫し した。 ⑤分析 各試料を粉碎後、燃焼法 で総残留放射能を測定 した。 有機溶媒、酸、アルカリ 溶媒抽出およびイオン 交換クロマトグラフィ ーなどを組み合わせ、た んばく質、セルロース等 の生体成分に分画した。 生体成分以外の代謝物 についてはGC-MS を試 みた。	単離したショ糖、セルロー ス、たんばく質、アミノ酸お よび有機酸の全てに ^{14}C 放 射能の取り込みが認められ た。 ^{14}C -ジクロロプロペン の残留は認められなかった。	(1973)	57

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX
M-5	土壌中における代謝	シルト質壤土及び壤質砂土	Catlinシルト質壤土50g またはFuquay壤質砂土30g をフラスコに入れ、 ¹⁴ C-1,3-Dのアセトン溶液 97μg/g または 105μg/g の割合で添加した。暗黒下 25°Cで30日または105日間インキュベートし、各土壌9時点の試料を採取した。採取した土壌はアセトンおよび酸性アセトンで抽出後、抽出物を濃縮してHPLCで分析した。抽出残渣は0.2N NaOH で抽出した。	Catlin土壌およびFuquay土壌における1,3-Dの半減期はそれぞれ11.5日および53.9日であった。	(1993)	62
M-6	土壌中における代謝	米国カリフォルニアダウ試験圃場土	全炭素を標識したシスー及びトランスージクロロプロペンを用い、通常の使用法に従って少区域の土壌中に注入した。その土壌にてんさいを栽培し1年後、収穫時、収穫1年後、土壌を採取した。試料を分析し、 ¹⁴ C活性の含量を求め、また残留物中の ¹⁴ Cを同定した。	投与した ¹⁴ Cの約15%が収穫時の土壌に残留し、その後残留化合物は質的にも、量的にも有意な変化はみられなかった。	(1973)	67

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法、処理量	概 略	試験機関 (報告年)	頁 IX																																		
M-8	加水分解試験	水	1,3-ジクロロプロペンを pH4.9、6.9 および9.0 のリン酸緩衝液(0.005M)中で、暗黒下10℃、20℃および30℃でインキュベートした。各経過時間に放射能を測定し、回収率をチェックした。	試験期間中放射能の回収率は良好であった。 1,3-D は時間とともに減少した。分解速度はどの温度においてもpHに影響されず分解は一次反応であった。	(1986)	70																																		
M-9	水中光分解試験	光 (緩衝液)	pH 7の滅菌トリス緩衝液中で約5 μg / ml の均一に標識した ¹⁴ C-1,3-ジクロロプロペン(1,3-D)の光分解を調べた。カイネティック試験では、試料をキセノンアーク灯に連続照射し、0、1、2、4、7、11及び16日目に試料を採取した。照射後11日目及び16日目の試料を同定用試料とした。試料を液性に変化させて液-液分配した後、必要に応じ各画分を誘導体化するなどしてGC/MSで分析し同定した。	25℃では、pH 7の滅菌トリス緩衝液中の ¹⁴ C-1,3-Dの分解は、照射実験及び暗所対照実験とも速やかで、1,3-Dの半減期はそれぞれ5.7日及び5.8日であった。この結果は、pH 7滅菌トリス緩衝液中での1,3-Dの分解に光分解がほとんど寄与しないことを示している。従って、1,3-Dの環境中分解には光分解は重要な経路でない。	(1996)	72																																		
M-10	水中光分解試験	光 (蒸留水及び自然水)	1,3-ジクロロプロペンを5ppmの濃度で添加し25℃で1.76mWh/cm ² の光を連続照射し、経時的に試料を取り出しGCで測定した。一次反応速度に基づき半減期を算出した。	蒸留水中および自然水における半減期はいずれも5日であった。対照(暗所)の半減期はそれぞれ7日および6日であり、光による分解は少ないと推定される。	(1992)	77																																		
M-7	土壌吸着性試験	土 壌	4種の土性の異なる畑地土壌を用いて「OECDのガイドライン106 吸着/脱着」に基づき、0.2ppmの0.01M塩化カルシウム溶液を添加して25℃で試験した。	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">土壌の種類</th> <th colspan="2">シ ス</th> <th colspan="2">トランス</th> </tr> <tr> <th>K</th> <th>K_{oc}'</th> <th>K</th> <th>K_{oc}'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>1.51</td> <td>41</td> <td>1.66</td> <td>46</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.52</td> <td>69</td> <td>0.88</td> <td>116</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>1.05</td> <td>91</td> <td>1.56</td> <td>136</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>0.52</td> <td>35</td> <td>0.86</td> <td>58</td> </tr> <tr> <td>K_{oc}</td> <td colspan="2">31</td> <td colspan="2">21</td> </tr> </tbody> </table>	土壌の種類	シ ス		トランス		K	K _{oc} '	K	K _{oc} '	1	1.51	41	1.66	46	2	0.52	69	0.88	116	3	1.05	91	1.56	136	4	0.52	35	0.86	58	K _{oc}	31		21		(1990)	79
土壌の種類	シ ス		トランス																																					
	K	K _{oc} '	K	K _{oc} '																																				
1	1.51	41	1.66	46																																				
2	0.52	69	0.88	116																																				
3	1.05	91	1.56	136																																				
4	0.52	35	0.86	58																																				
K _{oc}	31		21																																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は1,3-D技術協議会にある。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

1. 動物体内運命に関する試験

① 1,3-ジクロロプロペンのラットにおけるバイオアベイラビリティ試験

(資料No.M-11)

試験機関:

報告書作成年: 1996年

目的: 1,3-ジクロロプロペンは蒸気圧が高いため、ラット及びマウスでの毒性試験の混餌手段は、コーンオイル溶液での瞬時の経口投与に限られていたが、1996年にデンプン-ショ糖マトリックス中へのマイクロカプセル化により、飼料に混入投与が可能になった。そこで、従来の溶媒とマイクロカプセル化による経口投与との間でバイオアベイラビリティに差があるかどうか検討した。

供試標識化合物:

構造式;

化学名;

供試動物: Fischer 344 系雌ラット、開始時2~6カ月令

試験方法:

以下の表に示した試験計画に従い、 ^{13}C -1,3-D及びマイクロカプセル化した1,3-Dをラットに強制経口投与した後、最初の1時間にわたって経時的に血液を、また、48時間にわたって尿を採取した。

血液中におけるシス及びトランス異性体別の ^{13}C -1,3-D並びに1,3-D濃度をGC-MSを用いて定量し、吸収、排泄定数、半減期及びAUC値も計算した。

(試験 I)。

検体	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数	投与後時間 (分)										
				1	3	5	10	15	20	30	40	50	60	48hr
^{13}C -1,3-D (コーンオイル懸濁)	経口 a	25	3-6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	U
1,3-D (マイクロカプセル化)	経口 b	25	3-6	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	U

(注) a: コーンオイルに懸濁して2mL/kgの容量で強制経口投与した。

b: 重量で39.2%の1,3-Dをデンプン-ショ糖マトリックス (80:20) でマイクロカプセル化した後、コーンオイルに懸濁して2mL/kgの容量で強制経口投与した。

B: 頸静脈カニューレから血液を採取した。

U: 尿試料を48時間採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

さらに、試験Ⅱとしてコーンオイルに懸濁した ^{13}C -1,3-D 25mg/kg及びマイクロカプセル化した1,3-D 25mg/kgを2mL/kgの容量で強制経口投与したラットの頸静脈に中空ファイバー製プローブを外科的に埋め込んで自然のままに連続的に血中の ^{13}C -1,3-D及び1,3-Dレベルをモニターした。

結 果：

- 1) マイクロカプセル化した1,3-Dの安定性；
1,3-Dを含むデンプン-ショ糖のマイクロカプセルのコーンオイル（USP級）懸濁液を低速遠心及び数枚の粗綿布に通した後、溶媒中の1,3-Dの濃度を測定した。
その結果、溶媒中に1,3-Dが検出されなかった（検出限界：0.00032mg/mL）ので、マイクロカプセル化した1,3-Dは、コーンオイル中で非常に安定であった。
- 2) 吸収・排泄
①検体ごと、シス及びトランス異性体別の1,3-Dの血中濃度の推移を以下の表に示した。

投与後 時 間 (分)	血中濃度（平均±標準偏差：ppb）			
	コーンオイル懸濁 シス体	マイクロカプセル化 シス体	コーンオイル懸濁 トランス体	マイクロカプセル化 トランス体
1	30±5	104±45	68±18	249±65
3	50±16	105±60	150±43	286±114
5	60±20	127±114	193±63	276±137
10	78±16	62±20	279±76	234±76
15	38±19	33±27	141±78	137±111
20	15±5.9	16±13	60±27	62±49
30	7.6±2.1	8.3±4.0	29±9	30±15
40	4.4±1.9	4.6±2.3	17±3.8	21±12
50	3.7±0.5	3.6±0.7	13±3.7	16±7.7
60	4.5±1.8	4.8±1.6	11±6.1	14±6.7

投与後10分以内に血中濃度のピークに到達し、投与後30又は40分以内の濃度が10分の1未満に低下した。

全般的に、従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの方が、血中レベルのピークが高かった。唯一の例外として、トランス体の血中濃度のピークレベルが従来の溶媒懸濁とマイクロカプセル化とでほぼ同等であった。

シス体とトランス体との比較では、トランス体の血中濃度のピークレベルがシス体よりも一貫して高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

②試験ごと、検体ごとの吸収半減期、排泄半減期及びAUC値を以下に表に示した。

試験 No.	検体	投与形態	吸収半減期(分) (速度定数)	排泄半減期(分)		AUC (μg min/L)	総AUC に対する% ^a
				α 相(速度定数)	β 相(速度定数)		
I	シス体 ¹³ C- 1,3-D	コーンオイル懸濁	2.5 (0.275)	3.1 (0.222)	40 (0.0175)	1068	—
		マイクロカプセル化	1.3 (0.523)	3.7 (0.189)	37 (0.0189)	1344	—
	トランス体 ¹³ C- 1,3-D	コーンオイル懸濁	2.7 (0.256)	3.5 (0.198)	32 (0.0218)	3736	—
		マイクロカプセル化	2.3 (0.300)	2.8 (0.246)	27 (0.0256)	4278	—
	総 1,3-D	コーンオイル懸濁	—	—	—	—	46
		マイクロカプセル化	—	—	—	—	54
II	1,3-D	¹³ C- コーンオイル懸濁	4.7 (0.276)	4.7 (0.166)	43 (0.0186)		34 b
		マイクロカプセル化	3.2 (0.287)	6.1 (0.129)	29 (0.0261)		66

(注) a : (コーンオイル懸濁又はマイクロカプセル化1,3-Dの血中AUC値 x 100) / (総AUC)

b : AUCの計算には、6匹中3匹を用い、投与量で補正した。

1,3-Dの両異性体について、1.3~4.7分の吸収半減期が得られた。

一旦吸収された後の1,3-Dは、以下の二相性に従って血液から排出された。

排泄半減期：急速相 (α 相) - 2.8~6.1分

緩除相 (β 相) - 27~43分

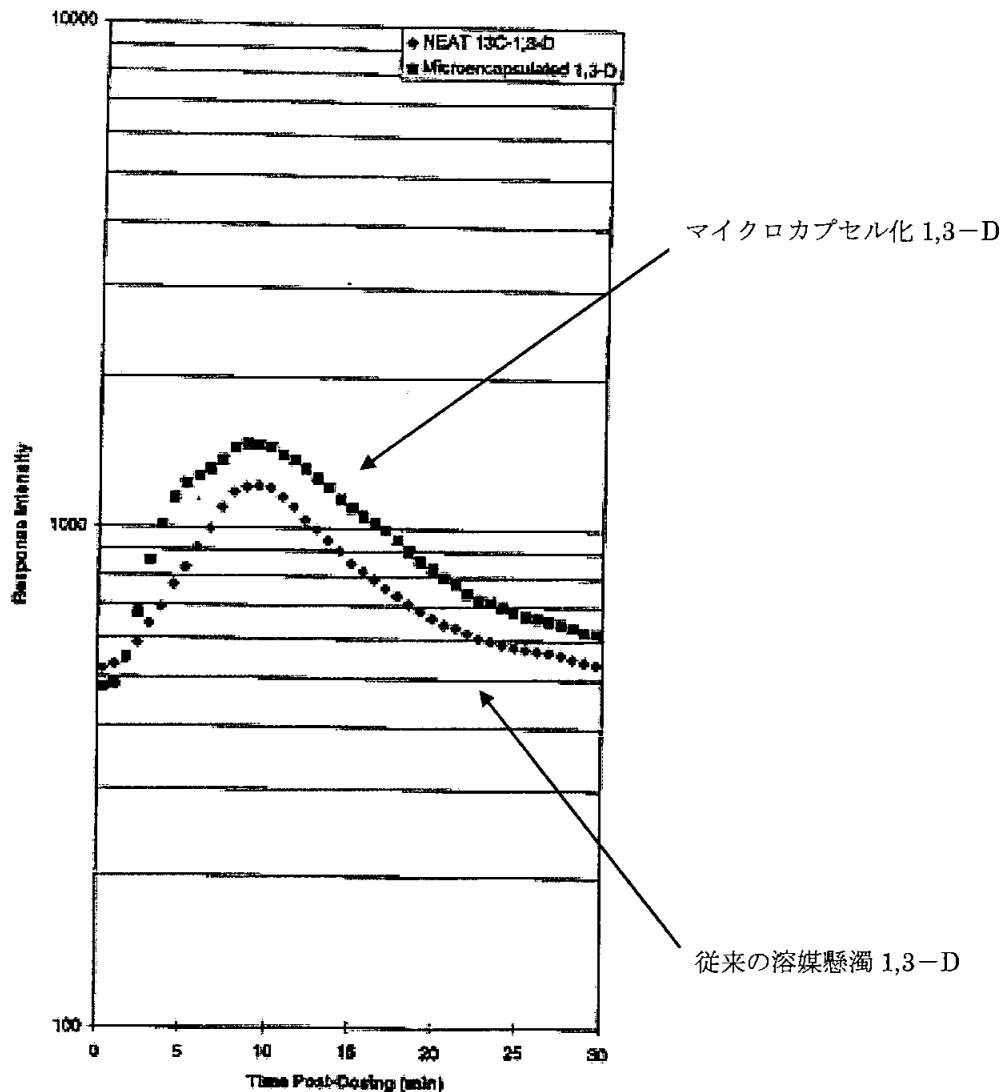
血中濃度曲線から計算したAUC値では、トランス体がシス体より高かった。

試験 I、II の総AUCに対する%から、従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの方が、AUC値が大きかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

④連続的に得た血中濃度をイオン強度データとしてプロットした血中濃度曲線を以下の図に示した。

従来の溶媒懸濁と比較してマイクロカプセル化由来の1,3-Dの血中レベルが、一貫して高かった。



結 論 :

ラットに一旦摂食されたマイクロカプセル化した1,3-Dの迅速なバイオアベイラビリティが確認された。すなわち、シス及びトランス-1,3-Dの両方の吸収は、従来の溶媒懸濁による1,3-Dと少なくとも同じ速さで起こって、結果的に高い血中濃度レベルを示し、従来の溶媒懸濁による1,3-Dの同じ用量よりも高い全身暴露となった。吸収に続く血流からの比較的急速な排出は、経口投与した両形態に由来する1,3-Dと吸入させた1,3-D由来のものについては、基本的に同じであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

②¹⁴C 標識 1,3-ジクロロプロペンを用いたラット及びマウス体内における代謝試験

(資料No. M-12)

試験機関:

報告書作成年: 2002 年 [GLP 対応]

供試標識化合物: ¹⁴C-標識 1,3-ジクロロプロペン (DCP) cis/trans-異性体

構造式;

化学名; 1,3-ジクロロプロペン cis/trans-異性体

比放射能;

放射化学的純度;

D₄-標識 1,3-ジクロロプロペンの純度;

(四つの水素原子がすべて重水素で構成されている)

非標識供試化合物の純度;

供試動物: Fischer 344 ラット雄、投与時約 7~8 週齢、体重 174~246g

B₆C₃F₁ マウス雄、投与時約 7~9 週齢、体重 25.8~29.8g

試験方法: 各検討項目の試験設計概要を下表に示す。

検討項目	供試動物及び供試数	投与検体	投与経路	投与量 (mg/kg)
代謝全般	F344 ラット、各 3 匹	¹⁴ C-標識体	経口	0、1、50
	B ₆ C ₃ F ₁ マウス、各 3 匹	¹⁴ C-標識体	経口	0、1、100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

投与液の調製及び投与；経口投与の投与液はコーン油を用いて調製し、投与液量を 5mL/kg として単回強制投与した。

試料採取； ^{14}C -標識体を投与した動物は投与 48 時間後、 D_4 -標識化合物を投与した動物は投与 9 時間後、非標識体を投与した動物は投与 5、10、20、60 及び 90 分後の時点で二酸化炭素を吸引させた後、心臓穿刺により屠殺した。

^{14}C -標識体を投与した動物の尿は投与 12、24 及び 48 時間後に、糞は投与 24 及び 48 時間後にドライアイス上に採取した。呼気は代謝ケージに設置した二酸化炭素捕集剤 [モノエタノールアミン / 1-メトキシ-2-プロパノール(3 : 7 v/v)] に通して排泄された CO_2 を捕集した。 D_4 -標識化合物を投与した動物は投与 0 ~ 9 時間後の尿及び糞をドライアイス上に採取した。非標識体を投与した動物からは血液及び肝臓試料を採取した。

分析；

放射能測定：血漿、尿及び糞の放射能を液体シンチレーションスペクトロメーターで測定した。バックグラウンド値の 2 倍を信頼できる定量限界とした。血液試料は溶媒（酢酸エチル）及び内部標準物質（ D_4 -標識 DCP ）入りのバイアルに入れ、攪拌した。肝臓は凍結させて粉碎し、後述する方法で溶媒、飽和食塩液及び内部標準物質入りのバイアルに入れた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

結 果：

排 泄；¹⁴C-標識検体を経口投与した動物において放射能は主に尿を介して排泄された。ラット及びマウスのいずれにおいても、投与後 48 時間以内に 55%以上が尿を経由して排泄され、糞を経由した排泄はラットで 9.0%以下、マウスで 15.1%以下であった。

表 1 に投与 48 時間後の排泄を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 1. ^{14}C -標識検体を経口投与後の放射能排泄（投与放射能に対する割合、%）

試料	尿				糞				
	ラット		マウス ($\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$)		ラット		マウス ($\text{B}_6\text{C}_3\text{F}_1$)		
投与量 (mg/kg)	1	50	1	100	1	50	1	100	
期間 (時間)	0~12	52.73	55.42	57.68	47.78	7.58	3.83	13.41	9.99
	12~24	2.54	4.11	5.56	6.72				
	24~48	1.24	0.83	0.73	1.04	1.39	0.48	1.67	0.67
	合計	56.51	60.36	63.96	55.54	8.97	4.30	15.07	10.65

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、1,3-D 技術協議会にある。

表 3. 代謝経路別、代謝物の割合（投与放射能に対する%、¹⁴C-標識検体経口投与動物）

動物	ラット		マウス (B ₆ C ₃ F ₁)	
	1	50	1	100
投与量 (mg/kg)				
試料	尿	尿+糞	尿	尿+糞

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。

図 1. 1,3-ジクロロプロペンのラット及びマウスにおける推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は 1,3-D 技術協議会にある。